

# 單株抗體——你儂我儂

M24 黃兆聖

1984年諾貝爾醫學獎頒給三位免疫學家；他們分別是：尼爾斯·喬恩（Niels K. Jerne）；塞薩·米爾斯坦（Cesar Milstein）；喬治·柯勒（George J.F. Köhler）。

單株抗體在近年來已被廣泛地研究。其誕生的過程和它的價值何在呢？且看下文，便見分曉。

※德高望重的喬恩

如果你問戴佛香教授「喬恩是那號人物？」得到的回答是「噢！是個老頭子」。

是的，他今年73歲。1911年12月23日生於英國倫敦，卻在丹麥受教育。哥本哈根大學畢業後，在美國加州理工學院及匹茲堡大學進行研究的工作。1969至1980間在瑞士的巴杰爾免疫研究所任所長一職。現在他已退休，並成為該所的榮譽教授。

喬恩在退休以後，並沒有放棄他多年的研究工作。旅居在法國南部，繼續鑽研。所以，能獲得諾貝爾獎，可以說是早在意料之中。

發現DNA分子結構而獲獎的分子生物學家華特遜說：「早在十年前，我們就預測他會得諾貝爾獎，沒想到一等就是十年。在此之前，我們還一直為他抱屈呢！」

而他自己也高興地說「如果能早一點得獎，我就不至於一直被兄弟姐妹看成怪人了。」

※敏銳的洞察力；大膽的假設——喬恩的貢獻

沒有喬恩；就不可能有單株抗體的產生。喬恩被認為是當今最偉大的近代免疫學家之一

。他還在當學生的時代，就已展露出大師的風範：他以白喉毒素—抗毒素之間的關係來研究抗體和抗原之間的作用。白喉毒素會引起身體上皮膚發炎反應；而抗毒素則可消除這種反應，觀測起來相當簡單。他發現，第一次反應所生的抗毒素較易和白喉毒素分離。而第二次所生的抗毒素則較不容易分離。他將這種性質稱為“Avidity”。這個實驗結果暗示著：體內所生的抗體的性能一次比一次強；能更有效地和抗原結合。

在1963年以前，細胞免疫學家若想計數產生抗體的細胞的數目，只能測抗體產生量，而後偷偷地去估計，猜測參與的細胞數目。那年喬恩和別人，描述一種方法可以計數產生抗體的細胞數目。他們是利用抗體加上補體具有溶解紅血球這種性質。此方法為細胞免疫學家打開了一條路。往後，細胞在免疫系統中的角色漸漸地被人所了解，喬恩的貢獻應居首功。

喬恩是第一個對抗體的形成提出一連串假說的近代科學家。他的三個假說使他成為諾貝爾獎的得主。

喬恩以前的免疫化學家以為：抗體是由抗原為模板而製造出來的。但他假設，製造抗體的訊息，在未接觸抗原以前就已經存在體內了。這種假設不太容易為當時所接受，因為根據常識判斷，生物體可以產生非常非常多不相同的抗體，可以根據侵入的抗原做出一種具專一性的抗體。如果沒有基因控制抗體的觀念，實在很難想像此種假說的可能性。後來有人將此假說加以修改：抗原選擇性的刺激一些淋巴細胞，這些淋巴細胞再產生對抗的抗體出來。這

種假說以後，就成為細胞免疫學的基礎。

1971年，喬恩設計出一套理論來解釋T淋巴細胞對抗原所產生的專一性。他假設：個體在胸腺中表現出來的Major Histocompatible Ag是促使胸腺細胞不斷分裂成為各種不同T淋巴細胞的主要刺激力量來源。結果產出了數目更多，不同專一性的細胞出來。以後的學者發現，T細胞辨認抗原的能力和它本身的Major Histocompatible Ag有關，而這種限制決定在胸腺之中。

溶血斑技術：當然，所有的免疫學著只能從血清中的抗體含量來分析免疫作用的強弱，沒有任何方法能從細胞層次上了解抗體分泌的機制。喬恩發明了溶血斑（hemolytic plaque）的技術，這種方法也稱為Terne's plaque assay。利用抗體如果認識綿羊血球上的抗原，加上補體後，會使紅血球溶解而產生溶血斑。利用適量稀釋，將細胞殖於含綿羊血球（表面上含待測的抗原）的洋膠上，觀察溶斑的數目和大小可以決定分泌特異抗體細胞的數目和抗體分泌的量。所測出的單位，就是 plaque forming cell 即 PFC。它可以測定一個動物的脾臟中，含多少的抗體分泌細胞。這發明，開啓了免疫研究的新紀元，從此可以由細胞層次來研究免疫抗體的反應。

喬恩的「免疫系統網」理論（idiotypic Network Theory）對免疫學界的影響也非常之大。抗原在動物體中，引發抗體的反應時，每一種細胞只會分泌一種特異性抗體，這種單一性是由免疫球蛋白基因的選擇、重組和RNA切割的結果。每一種抗體分子，在它的變化區（variable region）有它獨特的a.a.順序，以構成特異抗原的結合部位（Ag combining site）而這個結合部位本身也構成了另一個新的抗原決定區（Antigenic Determinant）而可以被身體其他的抗體認識，這個新抗原決定區稱為原來抗體的特型（idiotypic）。在任何抗原刺激以前，含任何一個特型（idiotypic

）的抗體都可以在極少數的B淋巴球上發現。但由於這些抗體含量很低，在動物體中不至產生對抗型（anti-idiotypic）的反應。但當某一抗原A介入後，大量對抗A的抗體產生，而每個抗體都含有A抗原的特型決定區，這些抗體超過一定限量後，就會被自己的免疫系統辨認出來，而產生對抗特型A的抗體（Anti-idiotypic A Antibody）。換言之，抗體這個蛋白本身也可成為另一抗體的抗原，而引發另一種抗體的產生——進而發生一連串連鎖反應。如此，生物體本身對自己所生的抗體有調節的作用。可對抗原而生一專一性抗體，而這抗體達一濃度後，身體又對其產生另一種抗體，使它的濃度達到新的平衡狀態。

他認為，免疫反應是由idiotypic—Anti-idiotypic細胞或分子所構成的網狀系統。除非有抗原、idiotypic或Anti-idiotypic的介入，它們是處於一種動態的平衡狀態，現今，已經有許多資料支持這種觀念，這假說對免疫系統正常下的調節關係或病理狀態下的改變（如自體免疫）都有很多暗示存在。

網狀系統理論有它實用性的一面，例如：如我們想使生物體對某一傳染性致病體產生抗體，只要在生物體內打入Anti-idiotypic刺激一種系的B細胞，即可有抗體產生出來。以此理論，我們不需打入特殊的抗原即可產生免疫反應以對抗疾病。

※青出於藍而勝於藍的柯勒

喬治·柯勒是喬恩的學生。1946年4月17日生於德國慕尼黑，從佛萊堡大學畢業後，1974年任職於英國劍橋大學的分子生物學研究所。1976年轉任巴杰爾免疫研究所（和喬恩在一起）他最近還被選為西德馬克斯·普克朗研究所的三位所長之一。

※富於想像力、樂於接受新構想的米爾斯坦

米爾斯坦1927年10月8日生於阿根廷的

巴伊亞布蘭加。畢業於布宜諾斯艾利斯大學後，進入劍橋大學。並於1960年取得學位。1963年進入劍橋附屬醫學研究機構的分子生物研究所擔任研究員至今（和柯勒同事）他目前也兼劍橋大學蛋白質核酸部部長。

### ※單株抗體的誕生

在他倆人的研究以前，抗體的取得方法，是將大分子異體蛋白打入動物體內，產生免疫反應，再從動物血清中分離出抗體出來。

但這種方法非常費事而且有許多限制。因為免疫系統可對那些微量抗原產生抗體。所以，只要打入的物質稍有不純成分，動物體所生的抗體就有一大堆我們不想要的。同時對同一抗原，由於針對的抗原決定基不同，所產生的抗體的專一性也稍有不同，親和力等性質也有差異。由於以上種種原因，抗體純化非常費時；同一種動物做出來的抗體略有差異，所以你難在第二次再做時，能得到和第一次相似的結果。

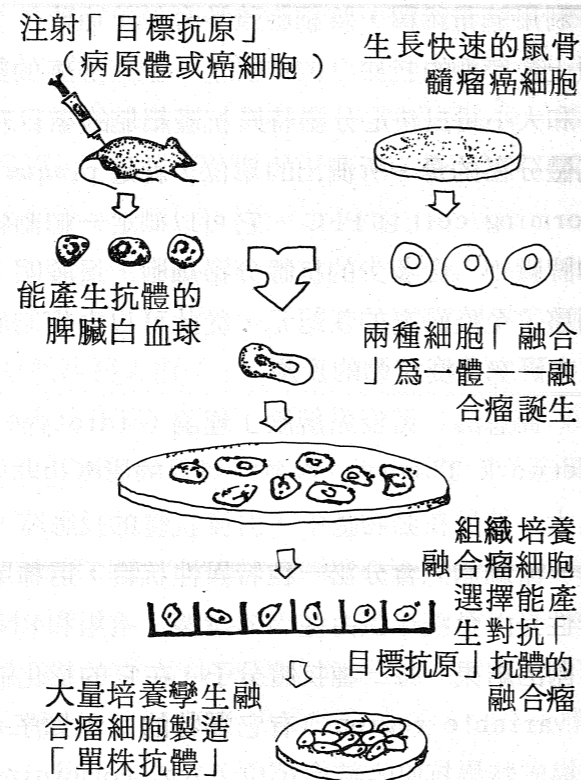
柯勒進入米爾斯坦在劍橋的研究擔任博士後研究生。他原先是想研究抗體多重性和基因的關係。但由於，以傳統方法，無法取得大量的單一抗體。同時由於產生抗體的漿細胞，通常在培養幾天後就香消玉隕，所以他急於想讓體弱多病的漿細胞長生不老（immortalizing）。在此以前，已經有學者將兩種不同細胞融合在一起以研究細胞間的調節和體細胞的遺傳性。柯勒嘗試培養老鼠的骨髓瘤細胞以獲取單一抗體，不過並沒成功。接著他又嘗試將不同種類的骨髓瘤細胞融合起來，結果順利得到兩種抗體。

當他把不同骨髓瘤細胞融合成功後，一天午夜夢迴，他忽然心血來潮：「如果把骨髓瘤細胞和淋巴球融合，是否會變成單一抗體的融合細胞呢？」

第二天早晨，他把構想告訴妻子，同時趕到實驗室告訴米爾斯坦。米爾斯坦認為技術上

可能有困難，不過值得一試。

柯勒他用綿羊紅血球作抗原，癌細胞則用P<sub>3</sub>骨髓瘤。融合幾天後，他從瓶中觀看，已經有融合細胞生長。但最重要的，是看看這些細胞會不會分泌對抗紅血球的抗體。柯勒說：「我注視著在瓶子中生長的細胞，我覺得很快樂。我遲遲不去試驗它的特異性」他等了七星期。1974年底，他決定去做一個溶血斑試驗。他回憶道「在一個耶誕節前的晚上，單獨去計算一個沒有結果的實驗，是無聊的事。所以我請妻子和我一道去。她知道我心神不寧，一直設法讓我平靜下來。我們走下了研究院地下室，這間地下室設有一個窗子，我拿起兩個培養皿，我看到了溶血斑！那簡直太美妙了！我大叫大跳，擁抱我的妻子，並親吻她，我快樂極了！我怎能期望比這更好的結果呢？」就這樣，世界第一個融合瘤誕生了。



「單株抗體的誕生簡圖」

1974年12月某天黃昏，實驗室傳來歡呼聲，柯勒回憶道「實驗成功的當時，我不禁高興的歡呼起來，因為它已達到預期中的最佳效

果。」他倆人將此結果整理成論文，刊登於1975年5月14日的Nature雜誌上，單株抗體於是正式誕生於醫學界中。

### ※單株抗體一些技術上的問題

主要的問題在於如何取得融合細胞（Hybridoma）將之分離出來。由於漿細胞體弱多病，很快即夭折，故不成問題。剩下的就是如何處置骨髓瘤細胞？他們用一種骨髓瘤細胞，這種骨髓瘤細胞缺乏一種：Hypoxanthine Phosphoribosyl transferase。將細胞培養於含：Hypoxanthine, aminopterin, thymidine。（HAT）的medium中，由於骨髓瘤細胞缺乏酶所以不能生存下去。而融合細胞具有來自淋巴球的酶，故生生不息安然生存下來。於是培養的結果，骨髓瘤細胞，漿細胞都被淘汰出局。只剩下長生不老的融合瘤。

他們利用此種技術，先讓淋巴細胞和骨髓瘤細胞結婚——「將咱倆個一起打破，重新和泥，重新再做……」——於是「你儂我儂，煞情多，情多處，熱如火，滄海可枯，堅石可爛，此愛此情永遠不變」這對夫婦白頭偕老，恩愛以渝永生不止。他們再將融合細胞在組織中培養或打入老鼠的腹腔中，於是在腹水中富含非常多的單株抗體，而如果這抗體具有和金黃葡萄球菌蛋白質A的結合位置，則要分離它就易如反掌了。

### ※單株抗體的衝擊

單株抗體實在是醫界的一大發明，可用它來診斷癌細胞，甚至一些癌症如Lymphoma；Leukemia也開始嘗試用它來治療。此外，如果我們能做出和神經系統有關的物質的單株抗體，則可幫助我們了解神經系統的詳細作用。

利用此項技術我們可生產以前傳統免疫方法無法測到的抗體。我們可對B細胞做更詳細的研究，同時再加上免疫螢光的技術，可隨心所欲地在多種B細胞中，找到我們所要的一種

B細胞。

利用單株抗體，我們可區別不同分化階段的淋巴細胞，並且根據它們的功能再加以分類。同時此技術使我們更了解自體免疫疾病和Major Histocompatible Ag之間的關聯性。

在生物界，我們可利用單株抗體在一大堆混雜的大分子中找出，分離出我們所要的蛋白質。並研究此蛋白質在某一方面的特殊用途。如：研究植物體中所傳送的發育素（auxin）。

在臨床上，醫學界將單株抗體喻為「火箭」注入人體後將會自行尋找疾病抗原，即「標的」找到之後再用單株抗體「攜帶」可治療藥物，摧毀目標，治療疾病。雖然如此，但臨床上，指望利用它，來殺死本世紀人類大敵「癌症」。目前為止還沒有令人滿意的效果。

世界上很多實驗室都費時間、金錢地尋找癌症腫瘤特異細胞。雖然目前並沒有成就，但醫界相信這種腫瘤細胞的抗原確實存在。還需要耐力、恒心，跑得快的科學家來宣布這個重大突破而已。

一般而言，臨床上用單株抗體來診斷和免疫有關的疾病。多用於T淋巴球的種類，數目的斷定，以判斷，推測病理機轉。

以國內最普遍的肝病來說，利用單株抗體檢驗也有其特殊意義。過去一年，長庚醫院肝膽內科曾使用單株抗體檢驗B型肝炎患者，發現了一些有意思的變化。長庚醫院肝膽科主任廖運範說，慢性B型肝炎患者，體內e抗原出現後，可利用單株抗體對T<sub>4</sub>、T<sub>8</sub>的特異性，檢驗出T細胞中T<sub>4</sub>降低和T<sub>8</sub>升高。同時合併螢光染色，可算出T<sub>4</sub>、T<sub>8</sub>的數目，進而了解這些慢性肝炎患者免疫功能變化。

這樣的檢查方法可推而用於許多疾病。而其他臨床診斷方面，可以用來在生化檢驗上定量荷爾蒙、藥物、代謝物等；同時可當做類癌細胞、病毒、細菌分類試劑，臨床上再決定治療藥物和方式。

## ※結語

諾貝爾發明火藥，以後人類對火藥的利用，完全出乎他的預料之中，使他在傷心之餘，創下了諾貝爾獎來提醒世人，勿誤用了科學的發明。

米爾斯坦和柯勒最初的實驗目的，只不過，在找出一種長生不老能生成抗體的細胞。而以後科學家對單株抗體的運用和發展和其價值真可令他們驚訝得，張大嘴巴三天三夜都講不出話來。

在那晚，柯勒的腦中纏繞著如何解決抗體純化的問題，忽然電石交錯，火光迸放，於是

單株抗體偉大的構想產生了。我們再看看這三位得主的生平，使我們不禁懷疑，到底是那一晚的靈感使他們獲得諾貝爾獎，抑或是他們對科學熱衷奉獻的精神使他們得到此項最高的榮譽。

### 參考資料：

1. 牛頓雜誌：1985年二月份
2. Science：30 November 1984 Volume 26, Number 4678
3. 民生報七十三年十月十六日。
4. 科學月刊第15卷第十二期。